

بررسی آلوایمیونیزاسیون در بیماران مولتی ترانس فیوز (تالاسمی) مراجعه کننده به بیمارستان حضرت علی اصغر(ع) تهران در سال ۸۴-۱۳۸۳

چکیده

زمینه و هدف: بیماران تالاسمی به علت ماهیت بیماری نیاز به تزریق خون مداوم دارند. بیمارانی که به طور مکرر خون می زنند، می توانند به مرور زمان آنتی بادی علیه زیرگروه های فرعی خون به وجود آورند. روش جدیدی که اکنون برای این کار پیشنهاد می شود غربالگری و تایپینگ آنتی بادی ها به روش میکروتایپینگ یا ژل سیستم است. هدف از انجام این پژوهش، غربالگری و تایپینگ آنتی بادی های نامنظم با روش میکروتایپینگ است تا در صورت گرفتن جواب مناسب، بتوان روشی نوین جایگزین روش متداول (کومیز غیرمستقیم یا روش تیوب) برای این گونه بیماران پرخطر کرد.

روش بررسی: بدین منظور مطالعه ای مقطعی روی ۴۵۸ بیمار مبتلا به تالاسمی که به بیمارستان حضرت علی اصغر مراجعه کرده اند، انجام گرفت. شیوه نمونه گیری به صورت آسان و غیراحتمالی بوده. اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS 11.5 و با استفاده از آزمون Chi-Square و با اطمینان ۹۵ درصد مورد بررسی قرار گرفتند. بررسی ارتباط بین پارامترهای مناسب هم باتست Pearson Chi-Square و بررسی ارتباط معنی دار بین پارامترهای متفاوت با P value نشان داده شد.

نتایج: از ۴۵۸ بیمار مورد بررسی ۲۲۱ مرد (۴۸/۳٪) و ۲۳۷ زن (۵۱/۷٪)، در محدوده سنی یک تا ۶۰ سال با میانگین سنی ۱۶/۹۶ (SD±۹/۰۲۱) بودند. از بین بیماران یازده نفر (۲/۴٪) عوارض همولیتیک، ۵۲ نفر (۱۱/۶٪) علائم آلرژیک و ۸۸ نفر (۱۹/۲٪) واکنش های تبزا را در حین تزریق خون بروز داده بودند. در غربالگری بیماران به روش جدید (ژل متد)، ۴۹ بیمار (۱۱/۸٪) دارای آلو آنتی بادی بودند. از بین بیماران با نتیجه غربالگری مثبت، ۴۰ بیمار (۸/۶٪) آنتی بادی از نوع گروه Kell و یا زیرگروه های Rh داشتند و ۹ بیمار (۱/۸٪) سایر آنتی بادی گروه های خونی، آنتی بادی ناشناخته و یا اتو آنتی بادی داشتند. نتایج آزمایش ها براساس غربالگری آنتی بادی به روش قدیم (تیوب متد) در ۲۸ بیمار مثبت شد.

نتیجه گیری: بیشتر این واکنش ها مربوط به زیرگروه های Rh و به خصوص E, C, c و گروه های Fy^a , Fy^b می باشد. نتایج تحقیق فعلی نشان دهنده آن است که غربالگری آنتی بادی علیه گلبول قرمز به روش میکروتایپینگ، دقیق تر از روش لوله ای می باشد.

کلیدواژه ها: ۱- ترانسفوزیون ۲- تالاسمی ۳- آلوایمیونیزاسیون

* دکتر شهلا انصاری I

دکتر آریتا آذرکیوان II

میترا صلاح مند III

پروین لطفی III

مقدمه

بیماران تالاسمی به علت ماهیت بیماری نیاز به تزریق خون مداوم دارند. اما از آنجائی که در کراس میچ خون فقط گروه های ABO و Rh کنترل می شود، بیمارانی که به طور مکرر خون می زنند، می توانند به مرور زمان آنتی بادی علیه زیرگروه های فرعی خون به وجود آورند (آنتی بادی های نامنظم) و همین باعث بروز واکنش های

خونی (واکنش همولیتیک تأخیری) می گردد.^(۱) مقدار این آنتی بادی ها با برخورد مکرر با آنتی ژن مربوطه ممکن است به مقادیر بالا برسد و مشکلی در تزریق خون این بیماران به وجود آورد. بیشتر این واکنش ها از نوع همولیتیک تأخیری بوده که علاوه بر کم خونی و عدم افزایش هموگلوبین پس از تزریق خون، باعث زردی و

این مطالعه تحت حمایت مالی سازمان انتقال خون ایران و دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام شده است (کد پروژه: ۵۸۳)
(I) دانشیار و فوق تخصص خون و سرطان کودکان، بیمارستان حضرت علی اصغر(ع)، خیابان شریعتی، خیابان وحید دستگردی، نرسیده به بزرگراه مدرس، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران (*مؤلف مسؤول)
(II) استادیار و فوق تخصص خون و سرطان کودکان، سازمان انتقال خون، مرکز تحقیقات خون، تهران، ایران
(III) کارشناس ارشد آزمایشگاه، سازمان انتقال خون، مرکز تحقیقات خون، تهران، ایران

احساس خستگی مداوم در بیماران می‌شود.^(۲)

لذا، در این بیماران بررسی و غربالگری نوع آنتی‌بادی می‌تواند به تشخیص آنتی‌ژنی کمک کند که بیمار فاقد آن است. اگر هر بار بیمار خون فاقد آن آنتی‌ژن دریافت نماید، میزان تیتراژ آنتی‌بادی به مرور کاهش می‌یابد و از عوارض فوق کاسته می‌شود. از طرفی با یافتن نوع آنتی‌بادی و پیدا کردن شیوع این آنتی‌بادی‌ها در بین بیماران می‌توان برنامه‌ریزی برای انجام اقدامات پیشگیرانه را انجام داد. ثابت شده که اگر در هر بار کراس میچ (تست سازگاری) علاوه بر گروه خون ماژور، تست سازگاری برای زیرگروه‌ها هم انجام شود به مقدار زیادی از بروز این آلواآنتی‌بادی‌ها می‌توان کاست.^(۶-۲)

در این مطالعه سعی شد تا غربالگری و تایپینگ آنتی‌بادی‌های نامنظم را به این روش (روش میکروتایپینگ یا ژل سیستم) انجام داده تا در صورت گرفتن جواب مناسب، بتوان روشی نوین، جایگزین روش متداول (کومبز غیرمستقیم یا روش تیوب) برای این‌گونه بیماران پرخطر کرد.

روش بررسی

مطالعه فوق مقطعی بوده و در آن هدف بررسی آلواآنتی‌بادی‌ها و تعیین نوع آنتی‌بادی نامنظم ناشی از تزریق خون‌های مکرر است. جامعه مورد مطالعه بیماران تالاسمی که به بیمارستان حضرت علی‌اصغر تهران (بخش خون، درمانگاه تالاسمی واقع در خیابان ظفر) مراجعه می‌کنند، بود. شیوه نمونه‌گیری به صورت غیراحتمالی؛ نمونه‌گیری آسان و در دسترس بوده و سعی شد تمام بیماران تالاسمی مراجعه‌کننده به درمانگاه را که جهت تزریق خون (شسته یا معمولی) مراجعه می‌نمایند را در بر گیرد. در بیماران مراجعه‌کننده، پس از پر کردن فرم مخصوص و گرفتن اطلاعاتی در مورد

سابقه واکنش به خون و مدت تزریق خون، اطلاعاتی در مورد گروه‌های اصلی و فرعی خون (در صورت موجود بودن) نیز گرفته شد. سپس به همراه نمونه CBC و لخته‌ای که برای کراس میچ بیمار گرفته می‌شود، ccc خون لخته در لوله‌ای جداگانه گرفته شد که نمونه‌های جمع شده در نهایت در ظهر همان روز توسط راننده و با حفظ زنجیره سرد به آزمایشگاه سازمان انتقال خون واقع در اتوبان همت جهت انجام کارهای آزمایشگاهی ارجاع شد و یا بیمار جهت انجام آزمایش‌های فوق به سازمان فرستاده شد.

در سازمان انتقال خون ایران (بخش سرولوژی اختصاصی) از نمونه‌ها سرم‌گیری انجام و سرم در ۲۰- درجه سانتی‌گراد فریز شده و گلبول قرمز در ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از جمع شدن نمونه‌ها و تهیه مواد اولیه ژل متد توسط همکاران آزمایشگاهی، آزمایش به روش میکروتیوب (ژل متد) غربالگری آنتی‌بادی انجام می‌شود. در صورت کشف آنتی‌بادی در مرحله بعد، تعیین هویت آنتی‌بادی انجام می‌گیرد که این نیز به روش میکروتیوب انجام می‌شود، همزمان آزمایش کومبز مستقیم نیز برای اطمینان از جواب‌های فوق صورت می‌گیرد. نتایج روش غربالگری آنتی‌بادی به روش جدید؛ میکروتیوب (ژل متد) و روش قدیم؛ تیوب متد (کومبز غیرمستقیم) مقایسه شد.

روش ژل متد: از کلیه بیماران، پنج میلی‌لیتر خون در لوله‌های حاوی ضد انعقاد EDTA گرفته شد. نمونه‌های پلاسما در مدت زمان کمتر از شش ساعت توسط سانتریفوژ از سلول‌ها جدا شده و در لوله‌های پلاستیکی مجزا به سازمان انتقال خون منتقل شده و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. ضمناً قبل از انجام آزمایش‌های غربالگری با استفاده از گلبول‌های جدا شده، برای کلیه بیماران تست کومبز

مستقیم با روش لوله‌ای انجام شد.

در هنگام انجام آزمایش‌های غربالگری، پس از ذوب پلاسماها و مخلوط کردن مجدد آن‌ها و سانتریفوژ نمونه‌ها به مدت یک دقیقه (جهت رسوب ذرات فیبرین احتمالی)، از کارت‌های Liss Coombs/Enzyme test و گلبول‌های ID-Dia cell 1P&2P&3P و ID-Dia cell 1&2&3 ساخت شرکت Dia med کشور سوئیس برای غربالگری اولیه استفاده شد؛ به این ترتیب که سه ویال اول کارت که شامل ویال‌های Liss Coombs بود ابتدا ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلول‌های O-Cell معمولی ریخته شد و در سه ویال دوم که شامل ویال‌های Enzyme test بود، از سلول‌های O-Cell آنزیمی که با آنزیم پاپائین مجاور شده، ۵۰ میکرولیتر ریخته می‌شد. سپس ۲۵ میکرولیتر از پلاسمای بیمار به هر کدام از این شش ویال اضافه شده و کارت‌های مذکور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور مخصوص این کارت‌ها به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه می‌شوند. بعد از اتمام زمان انکوباسیون، کارت‌ها به سانتریفوژ مخصوص منتقل شده و به مدت ده دقیقه در ۹۱۰ دور در دقیقه سانتریفوژ می‌شوند. در نهایت پس از اتمام مدت زمان سانتریفوژ، کارت‌ها از دستگاه خارج شده و در برابر چارت مخصوص از لحاظ وجود و یا عدم وجود آگلوتینه و نیز الگوی واکنش خوانده می‌شوند.

در صورت وجود آلوانتی‌بادی، این آنتی‌بادی در زمان انکوباسیون با گلبول‌های معرف که هر کدام دارای آنتی‌ژن‌های مشخص و تعیین شده‌ای هستند، باند شده و تشکیل کمپلکس‌هایی شامل آنتی‌بادی و گلبول را می‌دهند. در حین سانتریفوژ این گلبول‌های متصل توسط آنتی‌بادی، توانایی عبور از بین ذرات ژل موجود در داخل ویال‌ها را نخواهند داشت و براساس شدت واکنش صورت گرفته در سطح ژل و یا در طول آن رسوب می‌کنند که شدت واکنش به صورت ۱+ تا

۴+ درجه‌بندی می‌شود. در صورتی که بیمار آنتی‌بادی نداشته باشد، هیچ کمپلکسی تشکیل نشده و گلبول‌ها به صورت آزاد در حین سانتریفوژ از بین ذرات ژل عبور کرده و در ته ویال به صورت توده‌های کوچکی ته‌نشین می‌شوند.

برای بیمارانی که در غربالگری اولیه نتایج مثبت نشان داده‌اند، تست تعیین هویت آنتی‌بادی انجام می‌شود؛ به این ترتیب که یک نمونه‌گیری مجدد از بیمار به عمل می‌آید. روش انجام کار به این صورت است که برای هر بیمار، دو کارت Liss Coombs شامل دوازده ویال و دو کارت NaCl/Enzyme test شامل دوازده ویال در نظر گرفته می‌شود. در این مرحله، از سلول‌های پانل که در دو ست آنزیمی و معمولی و شامل یازده نوع سلول با آنتی‌ژن‌های مشخص استفاده می‌شود.

ویال‌ها در هر دو نوع کارت از شماره یک تا یازده شماره‌گذاری می‌شوند و ویال دوازده به عنوان ویال Auto control در نظر گرفته می‌شود. در ویال‌های کارت‌های Liss Coombs به ترتیب از سلول‌های یک تا یازده پانل معمولی در هر ویال پنجاه میکرولیتر از سلول‌های مربوطه و در ویال اتوکنترل پنجاه میکرولیتر از سوسپانسیون گلبول یک صدم درصد خود بیمار- که حاصل مخلوط کردن ده میکرولیتر از پکسل بیمار و یک سی‌سی محلول ID- Diluent 2 می‌باشد- ریخته می‌شود و سپس به هر ویال ۲۵ میکرولیتر از پلاسمای بیمار اضافه می‌شود. در ویال‌های کارت NaCl/Enzyme test نیز از سلول‌های مورد نظر در ویال‌های یک تا یازده ریخته و در ویال اتوکنترل ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی ویال خود بیمار به اضافه ۱۰ میکرولیتر از آنزیم پاپائین اضافه شده و نهایتاً ۲۵ میکرولیتر از پلاسمای بیمار به این سوسپانسیون سلولی اضافه می‌شود.

مراحل و نحوه انکوباسیون و سانتریفوژ همانند تست غربالگری انجام شده و پس از پایان مراحل ذکر شده، الگوی واکنش با استفاده از جداول همراه پانل‌ها خوانده

شده و نوع آنتی بادی مشخص می شود.

لازم به ذکر است در صورتی الگوی واکنش در پانل های معمولی و آنزیمی با هیچ یک از الگوهای آنتی بادی های موجود در جداول منطبق نباشد، در مرحله بعد از سلول های Extra panel استفاده می شود. این سلول ها به صورت شش تایی تهیه شده و قادرند بسیاری از آنتی بادی هایی را که در پانل آنزیمی و ساده قابل شناسایی نیستند را مشخص کنند. این سلول ها با کارت های Liss Coombs به کار می روند. مراحل انکوباسیون و سانتی فوژ دقیقاً مشابه تست های قبلی می باشد و در پایان الگوی واکنش در برابر جدول اختصاصی پانل خوانده می شود.

برای کلیه بیماران فرم های اطلاعاتی شامل خصوصیات ذیل تکمیل گردید:

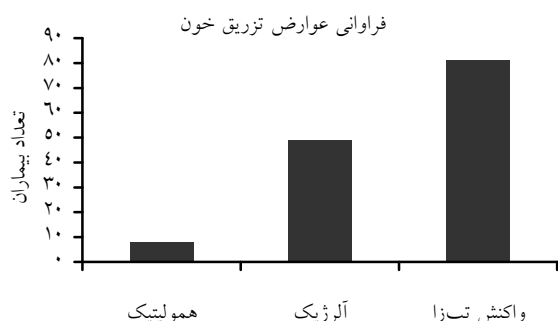
نام و نام خانوادگی، سن، جنس، نوع تالاسمی، سن شروع تزریق، استمرار دفعات تزریق، وجود واکنش تزریق خون، تعداد دفعات واکنش، نوع خون مصرفی، گروه های خونی اصلی و فرعی، وضعیت مصرف دارو، سابقه طحال برداری و سن طحال برداری.

نتایج اطلاعات حاصله با استفاده از نرم افزار SPSS V. 11.5 و با استفاده از آزمون Chi-square و با اطمینان ۹۵ درصد مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج این مطالعه به صورت مقطعی بود و آنالیز نتایج به صورت میانه، میانگین و انحراف معیار بود. پارامترهای آزمایشگاهی با range نرمال خودشان مقایسه شدند و بررسی ارتباط بین پارامترهای مناسب هم با تست Pearson Chi-Square و بررسی ارتباط معنی دار بین پارامترهای متفاوت با P value نشان داده شد. بر طبق پیش فرضی برنامه نرم افزاری، زمانی که P value عدد کمتر از ۰/۰۱ بود نشان دهنده ارتباط معنی دار بین داده های دو متغیر بود.

یافته ها

تحقیق بر روی ۴۵۸ بیمار صورت گرفت که ۲۲۱ مرد

(۴۸/۳٪) و ۲۳۷ زن (۵۱/۷٪) در محدوده سنی یک تا ۶۰ سال با میانگین سنی ۱۶/۹۶ (SD ± ۹/۰۲۱) بودند. از این تعداد ۴۰۳ بیمار دچار تالاسمی ماژور (۸۸/۱٪) و ۵۵ بیمار دچار تالاسمی اینترمیدیا (۱۱/۹٪) بودند. سن شروع تزریق از ابتدای تولد تا ۴۱ سالگی (۴۹۲ ماه) با میانگین ۲/۵ سال (۳۰ ماه) (SD ± ۵۵) برحسب ماه بود. در بین بیماران، ۳۸۹ نفر (۸۴/۹٪) به طور مرتب جهت تزریق خون به درمانگاه های تالاسمی مراجعه داشته و ۶۹ نفر (۱۵/۱٪) به طور نامرتب تزریق خون انجام می دادند. از بین بیماران، ۳۰۶ نفر (۶۶/۸٪) هیچ سابقه قبلی از واکنش به تزریق خون نداشتند، درحالی که یازده نفر (۲/۴٪) عوارض همولیتیک، ۵۳ نفر (۱۱/۶٪) علایم آلرژیک و ۸۸ نفر (۱۹/۲٪) واکنش های تبزا را در حین تزریق خون بروز داده بودند (نمودار شماره ۱). تقریباً هیچ کدام از بیمارانی که سابقه واکنش به تزریق داشتند، از تعداد دفعات واکنش ها اطلاعی نداشتند.

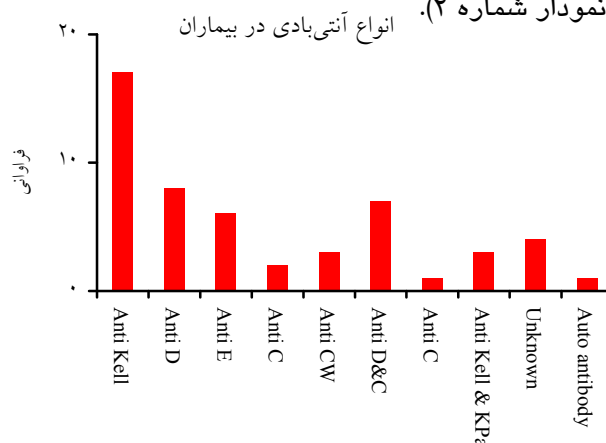


نمودار شماره ۱- فراوانی انواع واکنش های صورت گرفته حین تزریق خون در بیماران مورد مطالعه

در این تحقیق، اطلاعاتی راجع به گروه های ABO و Rh بیماران و همچنین زیرگروه های بیمارانی که تعیین گروه های فرعی برای آنها انجام شده بود (به لحاظ فراوانی و درصد) از پرونده پزشکی آنان استخراج شد. در غربالگری بیماران به روش جدید (ژل متد)، ۳۶۶ بیمار (۸۸/۲٪) فاقد آلوانتی بادی و ۴۹ بیمار (۱۱/۸٪) دارای

آلوانتی‌بادی‌های مهم بالینی بودند.

از بین بیماران با نتیجه غربالگری مثبت، ۴۰ بیمار (۸۱/۶٪) آنتی‌بادی از نوع گروه Kell و یا زیرگروه‌های Rh داشتند و ۹ بیمار (۱۸/۳٪) مربوط به سایر گروه‌های خونی و یا آنتی‌بادی نا شناخته و یا اتوانتی‌بادی داشتند (نمودار شماره ۲).



نمودار شماره ۲- توزیع آلوانتی‌بادی‌های به دست آمده برحسب نوع آنتی‌بادی

همچنین از بین بیماران دارای آلوانتی‌بادی، ۳۵ نفر (۷۱/۵٪) دارای یک آنتی‌بادی، ۸ نفر (۱۴/۳٪) دارای دو آنتی‌بادی و شش نفر دارای آنتی‌بادی‌هایی بودند که شناسایی آن‌ها با پانل‌های موجود ممکن نشد. یک نفر هم براساس آزمایش‌ها اتوانتی‌بادی داشت؛ یعنی سرم بیمار گلبول‌های خودش را از بین می‌برد. نتایج آزمایش‌ها براساس غربالگری آنتی‌بادی به روش قدیم (تیوب متد) در ۲۸ بیمار مثبت شد. یعنی در روش جدید یا ژل متد این مطالعه ۴۹ بیمار با نتیجه مثبت وجود داشت. اما در روش قدیم (تیوب متد) در ۲۸ بیمار جواب گرفته شد. این یعنی ۲۱ بیمار با روش تیوب جواب منفی داشتند و اگر غربالگری آنتی‌بادی تنها به روش قدیم انجام می‌شد (که البته هم اکنون در تمامی بیمارستان‌ها و بانک‌های خون مراکز درمانی این روش برای بررسی استفاده می‌شود)، ۲۱ بیمار مثبت از دست داده می‌شد.

اگرچه مرتب بودن فواصل تزریق خون در مقایسه با تزریق نامنظم به معنای دریافت تعداد واحدهای بیشتر

خون و به تبع آن افزایش خطر تشکیل آلوانتی‌بادی می‌باشد، لیکن در این پژوهش مشخص شد که بین مرتب بودن فواصل خونگیری و تشکیل آلوانتی‌بادی‌ها، هیچ ارتباط معنی‌داری وجود ندارد ($P > 0.05$). اگر وقوع واکنش به تزریق خون به عنوان نشانه‌ای از تشکیل آلوانتی‌بادی‌ها باشد، تنها واکنش‌های همولیتیک به عنوان شاخص تشکیل آلوانتی‌بادی بر علیه گلبول قرمز در نظر گرفته می‌شود؛ چون سایر واکنش‌ها از جمله واکنش‌های تب‌زا و آلرژیک به ترتیب براثر وجود آلوانتی‌بادی بر علیه گلبول‌های سفید و حساسیت نسبت به مواد پروتئینی داخل سرم اهداکننده به وجود می‌آیند. در این تحقیق، هفت بیمار که در غربالگری مثبت بودند سابقه واکنش‌های همولیتیک در حین تزریق خون داشتند که این حالت به‌طور معنی‌داری با تشکیل آلوانتی‌بادی‌ها در ارتباط بود ($P < 0.05$).

بیماران مورد مطالعه از خون شسته شده به تعداد زیاد استفاده کرده بودند و این حالت تاثیر خاصی بر تشکیل آلوانتی‌بادی‌ها بر علیه گلبول‌های قرمز داشت ($P < 0.05$). چون اصولاً شستشوی خون باعث حذف لکوسیت‌ها و پروتئین‌های پلاسمای واحد خون می‌شود، که این فرآیند می‌تواند در پیشگیری از واکنش‌های تب‌زا و آلرژیک مؤثر باشد و به‌رحال در نتایج مطالعه حاضر ارتباط معنی‌دار وجود داشت.

بحث

وقوع آلوانتی‌بادی یک حالت نسبتاً شایع می‌باشد (در ۰/۲ تا ۲۸ درصد افراد جامعه). بسته به گروه‌های مورد مطالعه و نیز حساسیت روش‌های به کار رفته در تشخیص آلوانتی‌بادی‌ها این مقدار متفاوت خواهد بود.^(۷-۹)

در تحقیق حاضر که روی ۴۵۸ بیمار انجام شد، آنتی‌بادی تولید شده علیه آنتی ژن‌های سطح گلبول قرمز در بیماران تالاسمی که مکرراً تزریق خون می‌شوند توسط دو روش لوله‌ای و میکروتایپینگ مورد بررسی قرار گرفت که با روش ژل متد، آنتی‌بادی در بیماران

بیشتری شناسایی شد (۸/۱۱٪ دارای آلوانتی‌بادی). به نظر می‌رسد علت این تفاوت، نقص در آنتی‌ژن‌های موجود در سطح گلبول‌های قرمز در روش لوله‌ای و حساسیت کم این روش باشد. چون اصولاً در کشور ما گلبول‌های مورد استفاده در غربالگری از مخلوط کردن دو یا سه سلول O+ به دست می‌آیند که هیچ شناسایی آنتی ژنی بر روی آن‌ها صورت نگرفته است. در نتیجه اولاً ممکن است آنتی ژنی که بیمار بر علیه آن آنتی‌بادی ساخته در سلول‌های مورد نظر وجود نداشته باشند؛ ثانیاً در اثر مخلوط کردن دو یا چند سلول، آنتی‌ژن‌های موجود روی هر سلول رقیق می‌شوند و از مقدار تراکم آنتی ژنی در سوسپانسیون سلولی کاسته می‌شود؛ ثالثاً نظر به اینکه برخی از آنتی‌بادی‌ها خاصیت دوزاژ دارند و با سلول‌های هموزیگوت برای آنتی‌ژن واکنش می‌دهند، مخلوط کردن آنتی‌ژنی می‌تواند باعث تجمع آنتی‌ژن‌ها به صورت هتروزیگوت شود. در نتیجه آنتی‌بادی‌هایی که دارای خاصیت دوزاژ باشند- مخصوصاً وقتی که تیتراژ پائینی داشته باشند- قابل شناسایی نخواهند بود. Bhatti در سال ۲۰۰۴ وجود آلو آنتی‌بادی را با روش

ژل میکروتیوب سیستم مورد غربالگری قرارداد. در این تحقیق آلوانتی‌بادی بر علیه گلبول‌های قرمز در ۹۷/۴٪ بیماران مشاهده شد که قسمت عمده این آنتی‌بادی‌ها مربوط به آنتی‌ژن‌های سیستم Rh و آنتی Kell، آنتی JSb و آنتی Jka بودند.^(۱۱،۱۰) Norol و همکارانش در یک تحقیق جالب در سال ۱۹۹۴، شیوع آلوانتی‌بادی‌ها در بیماران تالاسمی را ۸/۲٪ نشان داد. همچنین Spanos در مطالعات مشابه در یونان در ۳/۷٪ بیماران آلوانتی‌بادی را شناسایی کرد.^(۱۳،۱۲) با توجه به نتایج به دست آمده از تحقیق فعلی ۸۱٪ آنتی‌بادی‌های به دست آمده از بیماران مربوط به سیستم‌های Rh و Kell می‌باشد، که این ارقام با نتایج تحقیقات به دست آمده در سراسر جهان مطابقت دارد.

با توجه به نتایج این پژوهش و با مقایسه با سایر مراکز دنیا، تشابهی بین تمام پژوهش‌ها موجود است و آن تولید آنتی‌بادی و بروز واکنش‌های خونی در بیمارانی است که

به‌طور مکرر خون می‌زنند. تفاوت موجود بین این پژوهش با سایر پژوهش‌ها، انجام ندادن آزمایش‌های تعیین زیر گروه‌های خونی مخصوصاً سیستم‌های Rh و Kell برای هر کیسه خون علاوه بر گروه کیسه برای بیماران قبل از اولین تزریق خون است که باید انجام شود تا مطابق فنوتیپ مشابه به فرد تزریق خون انجام شود. با این کار ۹۰٪ از بروز آلوانتی‌بادی‌ها را می‌توان کاست. متأسفانه در مراکزی که تزریق خون انجام می‌شود، تعیین زیرگروه Kell و Rh مرسوم نمی‌باشد و بیشتر کراس مچ بر اساس گروه کیسه خون انجام می‌گیرد. در موارد وجود آنتی‌بادی هم، تعیین زیر گروه به روش لوله یا کومبس غیرمستقیم انجام می‌شود.

با توجه به تحقیق حاضر و نتایج موجود در مراکز تزریق خون باید کراس مچ هر کیسه خون براساس زیرگروه‌ها انجام شود و باید از روش ژل متد یا میکروتایپینگ، غربالگری و هویت آنتی‌بادی‌ها تعیین گردد تا دقت بیشتری در تعیین نوع آنتی‌بادی به عمل آید.

نتیجه گیری

جهت کاهش آلوانتی‌بادی علیه آنتی‌ژن گلبول قرمز به‌خصوص Rh و Kell، حتماً بیماران قبل از اولین تزریق خون بایستی تعیین زیرگروه‌های خونی به‌خصوص سیستم‌های Rh و Kell بشوند. مهم‌تر آنکه، جهت بررسی آلوانتی‌بادی در بیمارانی که مکرراً تزریق خون شده‌اند از روش میکروتایپینگ یا ژل متد استفاده شود، چون دقت این روش در تعیین هویت آنتی‌بادی‌ها بیشتر می‌باشد.

علی‌رغم تلاش‌های فراوان صورت گرفته در این طرح، اطلاعات بسیاری از بیماران مراجعه‌کننده از بیمارستان به سازمان به‌دلیل عدم تکمیل فرم توسط پرسنل بخش پذیرش سازمان انتقال خون ناقص ماند که به ناچار اطلاعات این بیماران به‌صورت از دست رفته (Missing) در روندهای آماری در نظر گرفته شد. آنچه که بسیار ضروری می‌نماید در درجه اول کامپیوتری شدن اطلاعات بیماران است. لذا، هرگونه برنامه‌ریزی برای تهیه یک

تقدیر و تشکر

این تحقیق با استفاده از حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی ایران و سازمان انتقال خون ایران در قالب طرح تحقیقاتی (کد پروژه: ۵۸۳) انجام گردیده است که بدین وسیله نویسندگان مقاله، مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسئولین آن مراکز ابراز می‌دارند.

برنامه نرم‌افزاری جهت کامپیوتری کردن پرونده بسیار ضروری است؛ به‌خصوص در ثبت عوارض غیرعفونی (همولیتیک) تزریق خون که در روشن شدن عوامل بروز آلوآنتی‌بادی در بیماران بسیار مهم است.

روش ژل متد یک روش دقیق و سریع و تمیز برای تشخیص بیماران می‌باشد. لذا توصیه می‌شود در مراکز تالاسمی از این روش برای کنترل غربالگری آنتی‌بادی استفاده شود.

فهرست منابع

1. Ameen R, AL-Shemmari S, AL-Humood S, Rafiq I. RBC alloimmunization and autoimmunization among transfusion-dependent Arab thalassemia patients. *Transfusion* 2003 Nov; 43(11): 1604-10.
2. Wonke B. Clinical management of beta thalassemia major. *Semina Hemato* 2001 Oct; 38 (4): 350-9.
3. Castilho L, Rios M, Pellegrino J Jr, T O Saad S, Costa F. Blood group genotyping facilitates transfusion of beta-thalassemia patients. *J Clin Lab Anal* 2002; 16(5): 216-20.
4. Ho HK, Ha SY, Lam CK, Chan GC, Lee TL, Chiang AK, et al. Alloimmunization in Hong Kong southern Chinese transfusion-dependent thalassemia patients. *Blood* 2001 Jun 15; 97(12):3999-4000.
5. Singer ST, Wu V, Mignacca R, Kuypers FA, Morel P, Vichinsky EP. Alloimmunization and erythrocyte autoimmunization in transfusion-dependent thalassemia patients of predominantly asian descent. *Blood* 2000 Nov 15; 96(10): 3369-73.
6. Hmida S, Mojaat N, Maamar M, Bejaoui M, Mediouni M, Boukef K. Red cell alloantibodies in patients with haemoglobinopathies. *Nouv Rev Fr Hematol* 1994; 36: 363-6.
7. Spanos T, Karageorga M, Ladis V, Peristeri J, Hatziliami A, Kattamis C. Red cell alloantibodies in patients with thalassemia. *Vox Sang* 1990; 58(1): 50-55.
8. Fongsatitkul L, Bannawat U, Sanguanserm Sri T. Unexpected red cell antibodies in thalassemic children. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1988; 23(5B): 291-3.
9. Tardtong P, Ratanasirivanich P, Chiewsilp P, Hathirat P. Red cell antibodies in thalassemia hemoglobinopathy patients. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1988; 23(5B): 287-9.
- ۱۰- عشقی پیمان، صانعی مقدم، اسماعیل میرمیسعودی مجید. بررسی آلوایمونیزاسیون در بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور شهرستان زاهدان در سال ۱۳۸۰. *مجله دانشگاه مازندران*. ۱۳۸۲؛ ۱۳ (۴۰): صفحات ۵۳۹-۳۴۵.
11. Bahatti F A, Salamat N, Nadeem A, Shabbir N. Red cell immunization in beta thalassemia major. *Coll Physicians Surg Pak* 2004 Nov; 14 (11): 657- 60.
12. Norol F, Nadjahi J, Bachir D, Desaint C, Guillou Bataille M, Beaujean F, et al. Transfusion and alloimmunization in sickle cell anemia patients. *Transfusion Clin Biol* 1994; 1: 27-34.
13. Spanos T, Karageorga M, Ladis V, Peristeri J, Hatziliami A, Kattamis C. Red cell allo antibodies in patients with thalassemia. *Vox sanguinis* 1990; 58: 50-55.

Assessment of Alloimmunization in Multi Transfuse (Thalassemia) Patients Admitted in Ali Asghar Children's Hospital During 2004-05

*Sh. Ansari, MD^I

A. Azarkivan, MD^{II}
P. Lotfi, MSc^{III}

M. Salahmand, MSc^{III}

Abstract

Background and Aim: Life long red blood transfusion remains the main treatment for severe thalassemia. The development of anti-RBC antibodies can significantly complicate transfusion therapy. Microtyping (Gel method) is the method which is recommended at present for screening and typing of antibodies. The aim of this study is to screen antibodies by Gel method and to replace the tube method (Indirect coomb's test) if suitable responses are observed.

Materials and Methods: A cross-sectional study was conducted on 458 transfused thalassemia patients in Ali Asghar Children's Hospital. Data were analyzed with SPSS V. 11.5. For parametric data, Chi-square test was used and for relation data Pearson chi-square was used. P values less than 0.05 were considered significant.

Results: In our study, there were 221 males 48.3%, and 237 females 51.7% with the mean age of 16.96 Yr. (SD±9.021) and age range of 1-60 years. Among the patients 11 (2.4%) had hemolytic reaction, 53 (11.6%) had allergic reaction and 88 cases (19.2%) had febrile reaction during the transfusion.

Alloantibody in 49 (11.8%) patients was positive (by microtube method), among which 40 (81.6%) patients had anti Kell or Rh (anti C,D,E,c,d,e) antibodies and 9 (18.3%) had unknown blood group antibodies or auto antibodies.

In our study alloantibody with tube method (indirect coomb's test) was positive in 28 patients.

Conclusion: Mismatched RBC phenotype was found for Rh (c,C,E) and Kell, Kidd and Duffy (Fy^b, Fy^a) antigens. Our data showed that screening anti-RBC antibody with the new microtyping method (Gel method) is better than tube method.

Key Words: 1) Transfusion 2) Thalassemia 3) Alloimmunization

This study has been conducted under the financial support of Iran Blood Transfusion Organization and Iran University of Medical Sciences and Health Services (No. 583)

I) Associate Professor of Pediatric Hematology and Oncology, Vahid Dastgerdi Str., Shariati Ave.,

Hazrat-e-Ali Asghar Hospital, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran (*Corresponding Author)

II) Assistant Professor of Pediatric Hematology and Oncology, Iran Blood Transfusion Organization, Tehran, Iran

III) MSc in Laboratory Science, Iran Blood transfusion Organization, Tehran, Iran